I examen parcial

Laboratorio de Microbiología Aplicada

50 puntos

Tiempo: 1.5 horas

Nombre: [redacted]

Grupo: 2

Puntaje obtenido: 50

Nota: 100

LEA CUIDADOSAMENTE LAS PREGUNTAS Y REALICE SUS CONSULTAS **EN VOZ ALTA**. NO SE ACEPTARÁN RECLAMOS DE RESPUESTAS ESCRITAS EN LÁPIZ O SOBRE CORRECTOR.

**I. Selección Única. Marque con una "X" la respuesta correcta de acuerdo con el enunciado. 1 pto/pregunta, 10 pts en total.**

**1. La técnica aséptica:**

( ) Permite que los microorganismos ingresen a nuestro cuerpo mientras los manipulamos

( ) Posibilita el uso de medios de cultivo y utensilios sin necesidad de esterilizarlos

(X) Previene la introducción de contaminantes microbianos en muestras y cultivos de interés

( ) No es necesario implementarla si se trabaja con microorganismos que no son patógenos

**2. Si comparto mi mechero con otro estudiante:**

( ) Se duplica el campo estéril alrededor del mechero

( ) Se disminuye el riesgo de contaminación

( ) Es indiferente porque un solo mechero es suficiente para dos personas

(X) Ninguno de las dos personas cumple correctamente con la técnica aséptica

**3. La fijación del frotis realizada en el curso:**

( ) Se realiza pasando el cubreobjetos tres veces por la llama

( ) Se puede realizar con la muestra húmeda

(X) Permite que se coagulen las proteínas y la muestra se adhiera a la lámina

( ) Se realiza hasta después de agregar los colorantes

**4. En las tinciones realizadas en clase se utiliza solución salina (0.85% NaCl) porque:**

(X) Es un medio isotónico para los microorganismos

( ) Aumenta el contraste de la muestra

( ) Tiene el mismo índice de refracción que el vidrio

( ) Aumenta el poder de resolución del microscopio en el que se observa la tinción

**5. En un microscopio de luz, la función del componente mecánico es:**

(X) Soporte

( ) Iluminación

( ) Producción de imagen

( ) Inversión de la imagen

**6. Dos partes del microscopio de luz que pertenecen al componente mecánico son:**

( ) Base y oculares

( ) Brazo y diafragma

( ) Condensador y objetivos

(X) Platina y perillas de ajuste macro y micrométrico

**7. El aceite de inmersión:**

( ) Se utiliza para evitar la desecación de la muestra

( ) Se limpia con papel toalla

( ) No es necesario limpiarlo

(X) Evita la pérdida de luz por refracción con el objetivo de 100X

**8. Cuál de los siguientes ingredientes funciona como fuente de energía en un medio de cultivo para crecer un microorganismo quimiolitótrofo.**

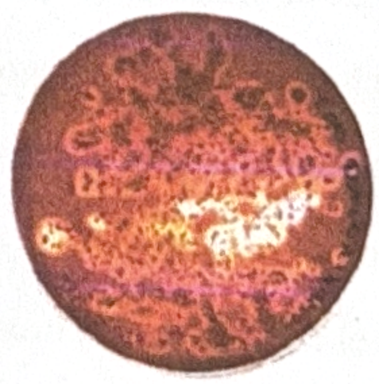
(X) Sales de hierro

( ) Agar

( ) Ácido tartárico

( ) Antibióticos

**9. La placa de Agar Sangre de la foto corresponde a una muestra proveniente del rostro, después de 48 horas de incubación a 37° C. Las zonas claras alrededor de las colonias son una sospecha que estas pertenecen al género:**



( ) *Escherichia*

( ) *Candida*

(X) *Streptococcus*

( ) *Proteus*

**10. Cuando la bacteria *Escherichia coli* se cultiva en Agar MacConkey y se le hace una tinción de Gram, se observa al microscopio una diferencia notable en el crecimiento de las células bacterianas, en comparación con lo que se observa cuando se hace una tinción de Gram de esta misma bacteria luego de haber sido cultivada en Agar de Recuento Estándar. Lo anterior se puede atribuir a que el Agar MacConkey, es un medio:**

( ) Definido y diferencial

(X) Enriquecido y selectivo

( ) Indefinido y general

( ) General y definido

II. Complete los espacios en blanco o casillas como mejor corresponda de acuerdo con el enunciado. 1 pto /espacio/casilla, 20 pts en total.

1. En un estudio publicado en 2017 sobre la biodiversidad de varias bibliotecas italianas, entre ellas, una con cientos de libros y manuscritos de los siglos 16 y 18, se emplearon muestreadores de aire acoplados a placas de Petri, que muestrearon 180 litros de aire. Si usted estuviera a cargo de este estudio y basado en la información previa, complete el siguiente cuadro para obtener la mayor cantidad de microorganismos de esa biblioteca, tanto procariotas como eucariotas (6 pts).

| Clasificación | Ejemplos de microorganismos por cultivar | Medios de cultivos a utilizar | Condiciones de cultivo (temperatura, tiempo) |
|---|---|---|---|
| Procariotas | Bacterias | ARE | 37°C por 24-48 horas |
| Eucariotas | Hongos | PDA | Aprox. Una semana a temp. ambiente |

2. Suponga que usted le está haciendo una tinción de Gram a dos bacterias, una Gram positiva y otra Gram negativa. Suponga también que usted tiene la posibilidad de observar las láminas al microscopio después de cada paso de la tinción, es decir después de agregar cada uno de los colorantes o el decolorante, según corresponda. Complete el siguiente cuadro mencionando de qué color cree usted que se vería cada bacteria, luego del paso indicado en el cuadro (8 pts en total).

| Paso de la tinción | Bacteria Gram positiva | Bacteria Gram negativa |
|---|---|---|
| 1-Cristal Violeta | Morado | Morado |
| 2-Lugol | Morado | Morado |
| 3-Decolorante | Morado | Incolora |
| 4-Safranina | Morado | Rosado |

3. Observe las siguientes estructuras fúngicas analizadas en clase y complete las casillas del cuadro con la información que se le solicita para cada estructura (6 ptos en total).

| | | |
|---|---|---|
| | | |
| Nombre científico (género) | Trichoderma | Fusarium |
| Característica **macroscópica** | Micelio color verde esmeralda | Micelio Blanco - Rosado claro |
| Relevancia | Control Biológico | Fitopatógeno, produce micotoxinas |

**III. Desarrollo. Explique en detalle lo que se le pregunta. 20 pts en total.**

1. Si se desea implementar el uso de un nuevo agente gelificante para medios microbiológicos, ¿Qué características debería tener este componente? Explique dos de ellas (4 pts).

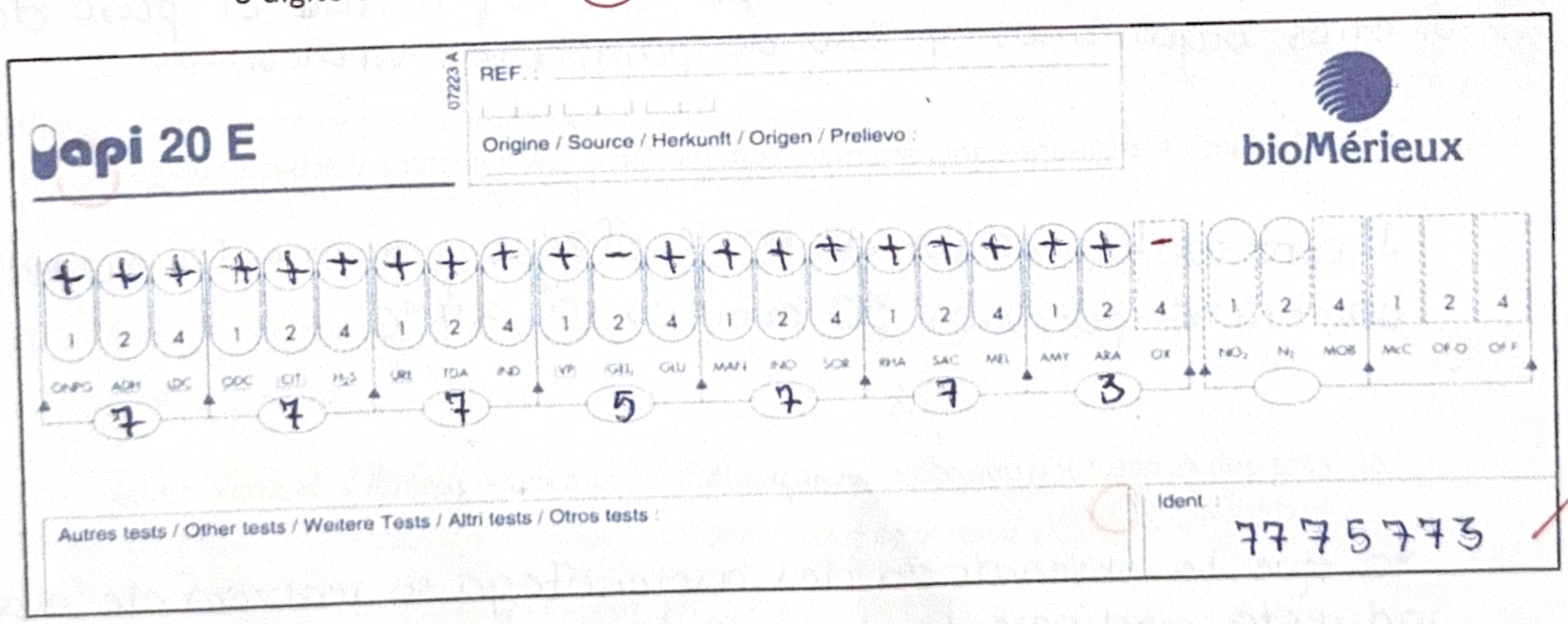
2. Suponga que usted realizó una prueba API20E para identificar una bacteria oxidasa negativa y obtuvo los resultados que se muestran a continuación y que también serán proyectados en la pizarra, para mayor claridad.

Respuesta 1.

- Temperaturas de fusión y gelificación adecuadas (para evitar inconvenientes como su fusión a temperaturas de incubación).
- Debe ser resistente a la actividad de microorganismos, para que no se degrade con el crecimiento de estos.

| Prueba | Reacción / Enzimas | Resultado | |
|---|---|---|---|
| | | Negativo | Positivo |
| ONPG | Beta-galactosidasa | sin color | amarillo |
| ADH | Arginina deshidrolasa | amarillo | rojo o naranja |
| LDC | Lisina descarboxilasa | amarillo | rojo o naranja |
| ODC | Ornitina descarboxilasa | amarillo | rojo o naranja |
| CIT | Utilización del citrato | verde | azul oscuro o turquesa |
| H2S | Producción de $H_2S$ | sin precipitado negro | precipitado negro |
| URE | Ureasa | amarillo | rojo o naranja |
| TDA | Triptófano desaminasa | amarillo | marrón-rojo |
| IND | Producción de indol | amarillo | color rosa o anillo rosa-rojo |
| VP | Producción de acetoína (Voges-Proskauer) | sin color | rosa-rojo |
| GEL | Gelatinasa | sin difusión | difusión de pigmento |
| GLU | Fermentación/oxidación de glucosa | azul o verde | amarillo |
| MAN | Fermentación/oxidación de manitol | azul o verde | amarillo |
| INO | Fermentación/oxidación de inositol | azul o verde | amarillo |
| SOR | Fermentación/oxidación de sorbitol | azul o verde | amarillo |
| RHA | Fermentación/oxidación de ramnosa | azul o verde | amarillo |
| SAC | Fermentación/oxidación de sacarosa | azul o verde | amarillo |
| MEL | Fermentación/oxidación de melobiosa | azul o verde | amarillo |
| AMY | Fermentación/oxidación de amigdalina | azul o verde | amarillo |
| ARA | Fermentación/oxidación de arabinosa | azul o verde | amarillo |
| OX | Citocromo oxidasa | | |

a) Con base en el resultado obtenido y en la información de interpretación, complete la hoja de resultados con con el símbolo "+" si la prueba es positiva y con el símbolo "-" si es negativa (-). Calcule y anote también el bionúmero correspondiente (0.25 pts/prueba o dígito del bionúmero; 7 pts en total):



b) De acuerdo con el bionúmero calculado, marque con una "X" la identificación correcta entre las siguientes opciones (1 pto):

( X ) 7 7 7 5 7 7 3 → *Enterobacter sakazakii*

( ) 6 7 7 5 7 7 7 → *Aeromonas hydrophila*

( ) 7 7 7 7 7 7 3 → *Edwarsiella tarda*

( ) 7 7 7 4 7 7 3 → *Pasteurella pestis*

( ) 6 7 7 6 7 7 3 → *Vibrio cholera*

3. *Xanthomonas campestris* es una bacteria fitopatógena Gram negativa que causa la pudrición negra del cultivo del repollo. El principal método para combatir este fitopatógeno consiste en el uso de pesticidas a base de cobre y antibióticos. Sin embargo, el cobre presenta efectos nocivos en los humanos y el medio ambiente y se ha observado un rápido aumento de cepas resistentes a los antibióticos. Por lo tanto, la búsqueda de nuevas estrategias de control es una tarea urgente. Suponga que a usted le solicitan aislar un bacteriófago contra esta bacteria (8 pts en total):

a) ¿Qué tipo muestra utilizaría para el aislamiento? Justifique su respuesta (2 pts).

Utilizaría una muestra de suelo proveniente de un cultivo donde haya evidencia de enfermedad por esta bacteria, ya que si la bacteria está presente ahí naturalmente es probable encontrar bacteriofagos contra esta.

b) ¿Qué procesamiento le aplicaría a esa muestra para asegurarse de que solamente va a contener bacteriófagos? Justifique su respuesta (2 pts).

Luego de disolverla, ya que es una muestra sólida, filtraría todos los sólidos con filtros de papel y posteriormente la filtraría al vacío con un filtro de 0,22 µm, que no permita el paso de bacterias u otros organismos y solo de partículas virales.

c) ¿Qué paso(s) realizaría para fomentar la interacción entre la bacteria y el bacteriófago? (2 pts)

Incubaría la muestra de bacteriófagos junto con la suspensión bacteriana por unos 30 minutos a 37 °C.

d) ¿Por qué es necesario que estos deban interactuar para poder realizar el aislamiento del bacteriófago? (2 pts)

Ya que la observación del bacteriófago se realizará de manera indirecta mediante la lisis de la bacteria, por lo que si estos no interactúan no se visualizará la presencia de bacteriófagos aunque hubieran estado presentes.